



Title	結核脱感作の実験的研究：第1報 脱感作によるツベルクリン・アレルギーと血中抗体の関係
Author(s)	山本, 健一; YAMAMOTO, Ken-ichi; 有馬, 純 他
Description	
Citation	結核の研究, 20, 1-6
Issue Date	1964
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26743">https://hdl.handle.net/2115/26743</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	20_P1-6.pdf



# 結核脱感作の実験的研究

## 第1報 脱感作によるツベルクリン・アレルギーと血中抗体の関係

山本健一・有馬 純・佐々木昭雄・高橋義夫

(北海道大学結核研究所予防部)

(昭和39年1月10日受付)

### 緒 言

従来、多数の研究者によって結核のアレルギーと免疫の関係が論ぜられて来たが、アレルギーと免疫の一元説を説く者<sup>1)~3)</sup>あり、二元説を主張する者<sup>4)~7)</sup>あり、又その折衷説を発表する者<sup>8)~10)</sup>ありで未だ確たる定説がないというのが現状であろう。

この結核に於けるアレルギーと免疫の関係を究明する目的で多くの人々<sup>11)~16)</sup>によって脱感作現象が研究されて来た。ところが、脱感作操作を施した動物に於ける免疫学的示標として追求されている血中抗体の推移に関しては未だ一致した意見が見られない。このことはツベルクリン反応に直接関与する抗体そのものが未だはっきり把握されておらず、又、脱感作そのものの機序にも不明な点が多いことに原因していると考えられる。その上、従来脱感作時の血中抗体測定には主として沈降反応あるいは補体結合反応が用いられて来たが、この場合使用抗原の性状はかなり複雑であり且つその抗原性にはかなり曖昧な点があったことも一層問題を複雑にしていたと思われる。結核抗原の不均一性については著者らの1人高橋および樽松がすでに指摘した<sup>17)</sup>。

先に著者らの1人高橋および協同研究者<sup>18)</sup>によって結核血清中には結核多糖体、蛋白、磷脂質に対応する抗体がそれぞれ独立して存在していることが明らかにされたが、我々は結核死菌感作動物の脱感作時に於けるこれら3種の抗体の消長を追究したところ、脱感作とこれら3つの抗体の消長の間には直接並行関係は認められなかった<sup>19)</sup>。なお、その際、脱感作抗原として旧ツベルクリン(OT)と結核菌体蛋白画分を用いたが、OTに対して脱感作された動物が菌体蛋白に対しては依然としてツ型アレルギーを示すことが注目された。

さて、それはそれとして、結核感作脾細胞の結核抗原による特異的融解現象に関する種々の研究<sup>20)21)</sup>又、先の我々の研究<sup>22)</sup>からも、この細胞融解現象とツ反応の成立条件にいわゆる抗原抗体反応が密接に関係しているこ

とは推論に難くない。

そこで、我々は脱感作時の血中の3種の抗体と脾細胞融解現象とツベルクリン型皮膚反応の相互関係を検討することによって、より結核アレルギーの本態の核心に近づき得るものと考え以下の実験を行った。

### 実験材料および実験方法

1) 実験動物：ウサギ

2) 感作方法：ヒト型結核菌 仲野 株加熱死菌 20mg を Arlcel と Drackeol 1 : 9 混合液に浮遊させて大腿部に1回筋注。

3) 脱感作：実験を2回行ったが、最初の実験では、死菌注射後2週目より各群5羽宛、それぞれ OT、菌体蛋白画分 Pmpa<sup>19)</sup> と R-12ab (BCG の脱脂菌体を1% NaOH で抽出、抽出液を pH 4.2 で沈澱させ、沈澱物をフェノールで精製し、溶解後更に35~80%メタノールで分画したもの。N : 14.4, P : 0.15, G : 0.8%) および PPD-S (予研より分与を受けたもの) を毎日少量あて投与した。投与方法は OT の場合は5倍液 0.2ml の皮下注射より始め、3日目毎に0.1ml宛増加し0.5mlに至って後この量を続けて投与した。他の脱感作抗原、Pmpa, R-12ab, PPD-S は夫々 OT と室素量を当量にして投与した。第2実験では第1実験と同様な感作動物を用い脱感作条件も同様であったが、材料の関係上1群には Pmpa の代りにヒト型仲野株蒸溜水浮遊加熱死菌 1mg を連日皮下注射した。

4) 血中抗体：脱感作開始前および開始後2週目毎に皮内反応実施直前に心穿刺で採血、その血清について多糖体画分 S<sup>23)</sup>、磷脂質画分 Pd-nhb<sup>23)</sup> および蛋白画分 R<sup>23)</sup> を夫々抗原とする赤血球凝集反応を型の如く行った<sup>23)</sup>。第1実験では8週目までの5回、第2実験では8週目および14週目の2回だけ抗体価をしらべた。8週以後は脱感作操作を施さなかった。

5) ツベルクリン型皮内反応：第1および第2実験共脱感作開始前および開始後2週毎に採血を行った場合に

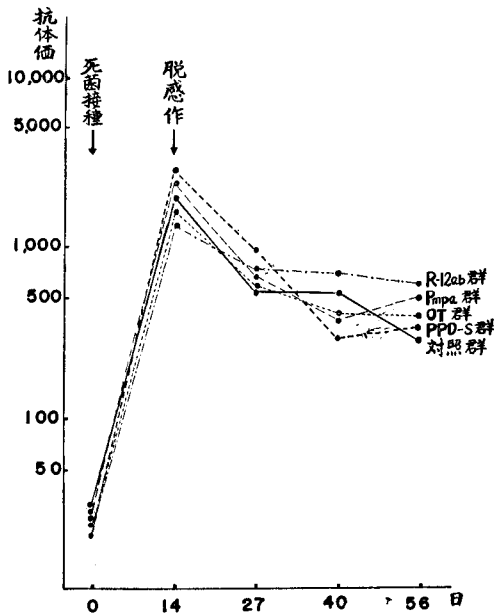
は採血の直後に OT 100 倍液 0.1 ml をウサギの背部に皮内注射。判定は 24 時間後に行ない、発赤の大きさと硬結の程度を記載した。又、OT に対する脱感作のほぼ成立した時期、即ち第 1 実験では 6 週目に、脱感作に用いた蛋白画分 R-12ab, Pmpa および PPD-S で交叉的に同時にツ型皮膚反応をしらべた。なお、皮膚反応に用いた抗原の注射量は 100r とした。この量は OT 100 倍液とはほぼ等力価である。又、第 2 実験では同様に OT 100 倍液, R-12ab 50r, PPD-S 25r を用い 8 週目およびその後放置 6 週目にしらべた。各々の注射量は略等力価である。

6) 脾細胞融解現象：第 2 実験では脱感作操作 8 週目およびその後脱感作操作をせずに放置して 6 週間目のものについて、皮内反応測定後、型の如く脾細胞浮遊液を作り、これに脱感作に用いた各抗原画分 100r を交叉的に添加、既報<sup>22)</sup>の方式に従って細胞融解の程度を核数計算によってしらべた。

実験結果

1) 血中抗体の推移：図 1 に示す如く、多糖体抗体価

図 1 多糖体抗体 (S②)



は何れの脱感作群に於ても対照群と比較して著明な差異が見られなかった。即ち脱感作群に於ては脱感作操作開始とともに抗体価は下降を示し、2 週以後殆ど変動をみなかったが、対照群にも同様な傾向が認められた。磷脂質抗体価は図 2 に示す如く全群略々同様な経過で上昇し 4 週以後は停止した。これに対し、図 3 に示した蛋白抗

図 2 磷脂質抗体 (Pd-nhb)

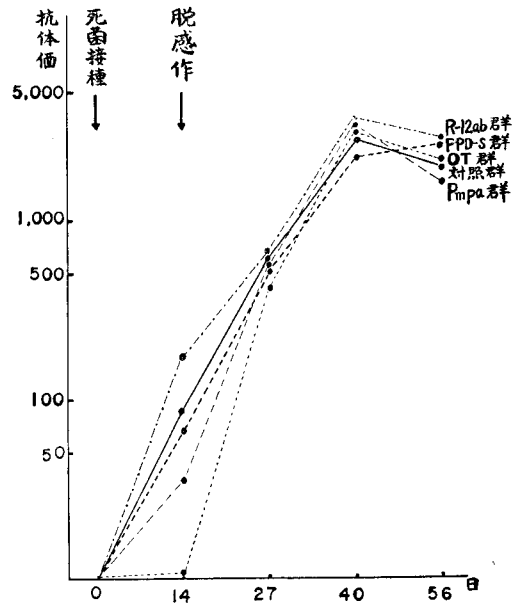
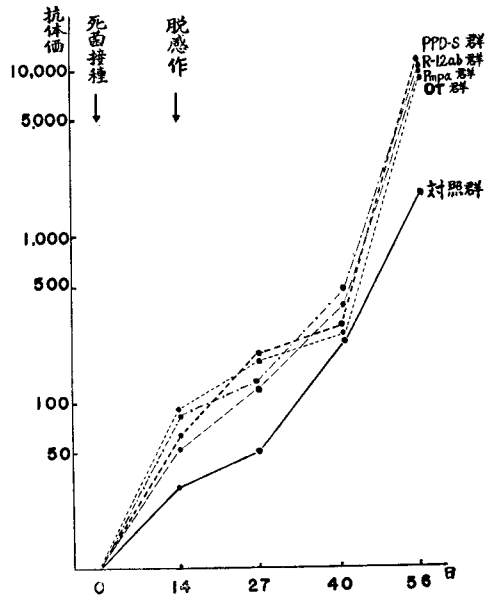


図 3 蛋白抗体 (R⑨)



体では全脱感作処置群に上昇が見られ、6 週では対照群よりも遙かに高い値を示した。しかし、いずれの場合も脱感作群と対照群の間に著差は認められなかった。

2) 皮内反応：第 1 実験に於ける OT に対する皮内反応の推移は図 4 に示す如く、2 週以後全脱感作群の反応は減弱し、6 週目で反応は消失乃至著明な減弱を示し

図4 ツ皮膚反応 (OT:100X)

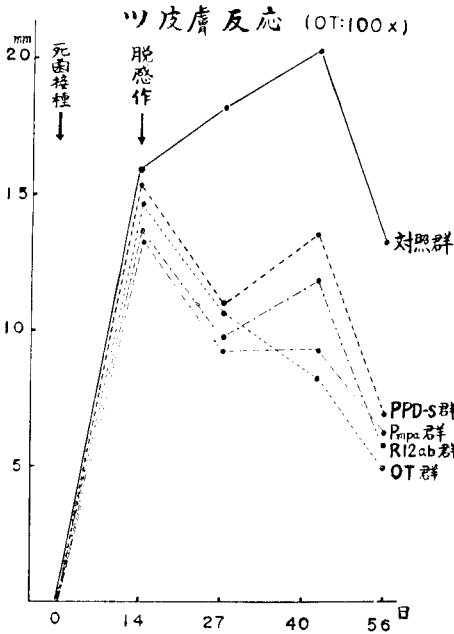


表1 脱感作42日目における各々の抗原による皮膚反応

反応抗原		脱感作群			
		OT 100x	Pmpa 100r	R-12ab 100r	PPD-S 100r
OT	群	5.0	15.2	8.0	12.7
Pmpa	群	6.3	15.6	12.6	15.6
R-12ab	群	5.9	18.6	20.0	18.2
PPD-S	群	7.0	19.3	18.6	18.8
対照	群	13.8	14.5	14.6	15.7

た。この際、各脱感作抗原による各群の皮内反応を交叉的に併せてしらべた結果を表1に示した。この結果によって、既報<sup>19)</sup>の如く、OT 脱感作群の R-12ab に対する反応がやや減弱していた以外はすべて対照群と同程度の反応を示すことが分った。

次に加熱死菌連続注射群を加えた第2実験で各群の OT に対する皮内反応の推移を示したのが図5である。加熱死菌群は注射開始4週以後全群中最も強い反応を示

図5 ツ皮膚反応の推移 (OT:100X)

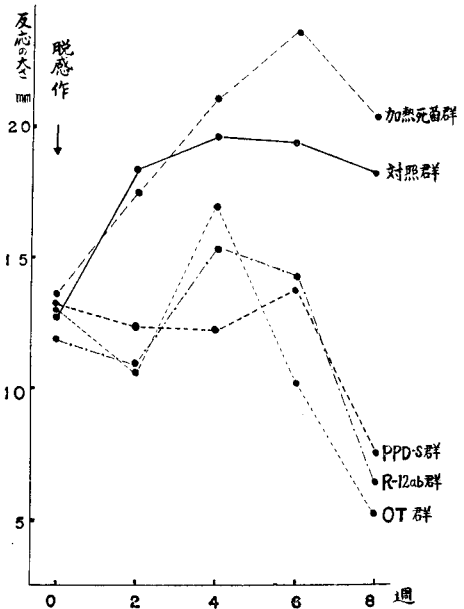
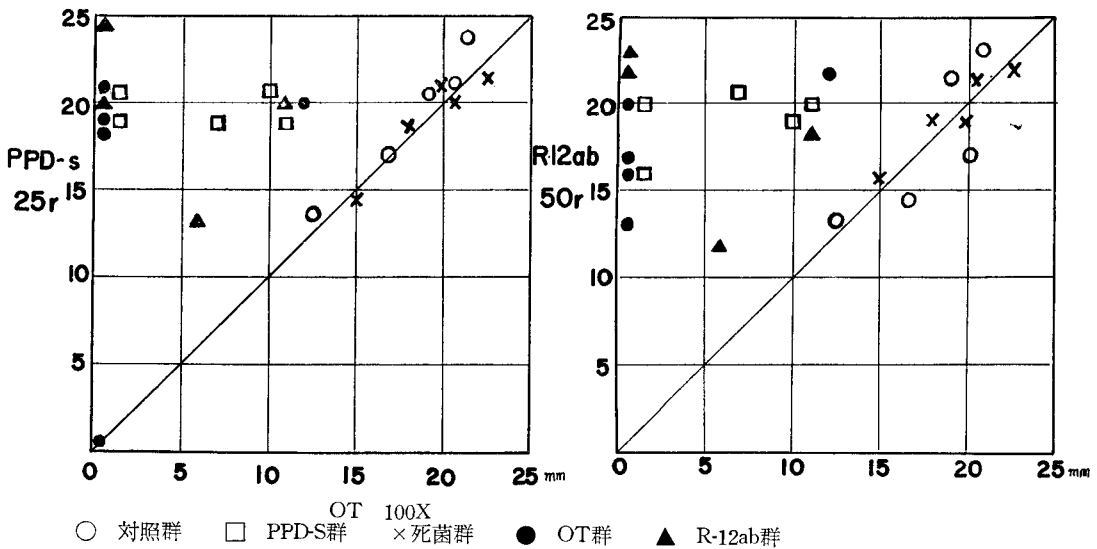


図6 脱感作8週に於ける各抗原皮膚反応の相互関係



したが、他の脱感作群は2週以後反応が減弱し始め、8週に至り殆ど脱感作状態に到達した。この際、第1実験と同様に OT と併せて PPD-S、R-12ab で全群の皮内反応をしらべた結果を図6に示した。この図から明らかのように、加熱死菌群を除き他の脱感作群は上述の如く、ツ反応が消失しているか、又はかなり減弱しているにも

胞融解現象との間に何らかの関係を求めようと試みた。

先づ、皮内反応と血中抗体の関係をみると、ツ反応の減退に伴って上昇をみるのは蛋白抗体のみであった。

さて、結核に於ける脱感作時の血中抗体の消長を沈降反応、補体結合反応でしらべた業績には Clawson<sup>24)</sup>、Higginbotham<sup>25)</sup>、Baker<sup>26)</sup>、磯<sup>27)</sup>、安在<sup>13)</sup>、森川<sup>28)</sup>、

表2 脱感作時の Cytolysis, 皮膚反応及び血中抗体

脱感作群	反 応 抗 原	脾 細 胞 融 解				皮 膚 反 応			血 中 抗 体		
		対 照	OT	R-12ab	PPD-S	OT	R-12ab	PPD-S	多糖体	磷脂質	蛋 白
脱感作 8週目	OT	100	118	102	106	—	$\frac{+}{17 \times 17}$	$\frac{+}{18 \times 20}$	160×	640×	>2560×
	R-12ab	100	92	111	106	—	$\frac{+}{20 \times 24}$	$\frac{+}{23 \times 26}$	640×	1280×	>2560×
	PPD-S	100	107	101	96	—	$\frac{+}{20 \times 20}$	$\frac{+}{18 \times 20}$	640×	640×	>2560×
	死 菌	100	91	106	97	$\frac{+}{20 \times 20}$	$\frac{+}{18 \times 20}$	$\frac{+}{21 \times 21}$	2560×	>2560×	>2560×
	対 照	100	69	64	67	$\frac{+}{20 \times 20}$	$\frac{+}{16 \times 18}$	$\frac{+}{20 \times 21}$	160×	640×	>2560×
同上後 放置6週目	OT	100	95	100	97	—	$\frac{+}{20 \times 18}$	$\frac{+}{20 \times 21}$	320×	640×	320×
	R-12ab	100	95	97	113	$\frac{+}{12 \times 12}$	$\frac{+}{18 \times 21}$	$\frac{+}{18 \times 21}$	320×	160×	640×
	PPD-S	100	96	75	71	$\frac{+}{13 \times 13}$	$\frac{+}{14 \times 14}$	$\frac{+}{16 \times 20}$	160×	640×	1280×
	死 菌	100	103	104	100	$\frac{+}{18 \times 16}$	$\frac{+}{16 \times 16}$	$\frac{+}{17 \times 18}$	1280×	2560×	>5120×
	対 照	100	65	70	70	$\frac{+}{22 \times 22}$	$\frac{+}{21 \times 21}$	$\frac{+}{22 \times 23}$	640×	>2560×	1280×

かわらず、R-12ab あるいは PPD-S に対する皮内反応は対照および加熱死菌群と同程度であった。

3) 脾細胞融解現象：脱感作処置8週目およびその後脱感作操作を中止して放置6週目に各群夫々1羽のウサギについて脾細胞融解。皮内反応および血中抗体の3者の関係を検べた結果が表2である。この表に明かな如く脱感作中止直後に於ては何れの脱感作処置群の脾細胞も OT、R-12ab および PPD-S の何れによっても融解を受けなかった。これに反して、脱感作中止後6週経過後は PPD-S 脱感作群の脾細胞は R-12ab および PPD-S に対し融解を示すに至った。しかし、その他の群は各抗原に対して依然として融解を示さなかった。

なお又、脾細胞融解現象、3つの血中抗体の抗体価および各抗原による皮内反応の強度の3者間には一定の関連性を見出すことは出来なかった。

#### 総括および考按

結核死菌感作ウサギについて、従来脱感作抗原としてしばしば用いられている OT および PPD-S と我々のところで分離した2種の結核菌体蛋白画分を用いて脱感作処置を行い、そのツ型皮内反応、血中抗体さらに脾細

胞融解現象との間に何らかの関係を求めようとしてきた。大原<sup>29)</sup>らのものが挙げられるが、それらの成績は区々であり、又、その解釈もまちまちで一致していない。これは実験条件の違いもあるであろうが、とりわけ、血清反応に用いられた抗原の性質に問題があると考えられる。上述の如く結核抗原（多糖体、蛋白、磷脂質画分など）は血清学的には不均一のものであるから、そのことに考慮が払われずになされた実験成績の解釈は当然紛糾を免れ得ないであろう。

ところで、周知の如く、Middlebrook and Dubos<sup>30)</sup> によって結核多糖体を抗原とし正常赤血球を吸着原とする赤血球凝集反応（以下 MD 反応）および Boyden<sup>31)</sup> によって結核蛋白を抗原としタンニン酸処理赤血球を吸着原とする赤血球凝集反応（以下 B 反応）が発表されて以来、いち早くこれらが結核血清学に採り入れられ、結核抗体追究の手段となった。ことにこの2つの反応の抗原抗体系について Menyell<sup>32)</sup>、Stacey<sup>33)</sup>、進藤<sup>34)</sup> らの業績があるが、この2つの反応が特異反応であるかどうかは未だはっきりしていなかった。その間、とくに MD 反応ないしはその変法である溶血反応を用いて、脱感作時のツ反応と血中抗体の関係を吉田<sup>35)</sup>、川上<sup>36)</sup>、八木<sup>37)</sup>、

長田<sup>38)</sup>、会田<sup>39)</sup>、土屋<sup>40)</sup>が検討している。用いられた抗原は OT, PPD-S, 又は ツベルクリン多糖体画分などであったが、それらの成績を見ても血中抗体とツ反応の関係には結論的なものが見出されない。

最近著者の1人高橋及び協同研究者は MD 反応および B 反応の特異性を確立し、結核多糖体画分および蛋白画分いづれを抗原とする場合でも MD 反応は多糖体系の抗原抗体反応即ち多糖体抗体にのみ関与し、B 反応は蛋白系の抗原抗体反応即ち蛋白抗体にのみ関与することを異論の余地なく立証した<sup>18)</sup>。高橋らはその他に磷脂質抗体も血中抗体として独立して存在することをきとめた。この研究成績からひるがえって見ると、上記の研究者達は知らず識らずの間に結核血中抗体として多糖体抗体のみを追及していたことになる。ここに問題があったと思われる。

さて、ツ反応は蛋白系の抗原抗体反応の結果として発来するものであることはつとに Seibert<sup>41)</sup> が指摘したところであり、我々も又、ツ反応の発来には結核多糖体及び磷脂質は関与しないことを立証している<sup>19)</sup>。従って結核血中抗体とツ反応の関係を云々する場合は少くとも蛋白抗体を追及すべきで、血清反応としては B 反応に重点をおくべきであろう。この意味において今回、蛋白抗体に重点をおきながら、脱感作時における3つの抗体の消長を追及してみたのであるが、脱感作時において蛋白抗体のみが上昇したことは興味深い、しかしながら、蛋白抗体は勿論他の2つの血中抗体もツ反応発来の強度と何らかの関係があるという実験的証査は得られなかった。従って現在の段階では、蛋白抗体であることには変わりないと思われるが、血中蛋白抗体はツ反応発来のための抗体と関連があるとは考えられない。

次に Rich<sup>20)</sup> 以来、ツ反応に極めて関連の深いとされている結核感作細胞の融解現象をツ反応と対比してみると、ツ反応の存続消失の如何にかかわらず蛋白抗原の連続注射によって細胞の感受性が消失すること、即ち脱感作されることが分った。このようにツ反応と細胞融解現象の脱感作の過程は必ずしも軌を一にしないが、細胞融解現象が蛋白抗原によって脱感作される事実は、この現象もツ反応の場合と同様蛋白系の抗原抗体反応がその根底をなしていると考えるのが妥当であろう。しかし両者の脱感作過程が並行しなかったのは、ツ反応は in vivo の反応であるのに反し細胞融解は in vitro の反応であること、従って測定の尺度が同じでないことに一端の原因があるのであるが、皮膚細胞と体内臓器細胞の感作の度に差があるためとも考えられる。しかし、この点は

更に実験を重ねて検討しなければならない。

以上、何れにしても、脾細胞融解現象、ツ型皮膚反応血中抗体の3者の間に直接関係は見出されなかったわけである。

さて、OT 脱感作群が OT に対して脱感作成立後も、なお PPD-S, 菌体蛋白画分 Pmpa, R-12ab など蛋白抗原に対しては依然として強い皮膚反応を呈し殆ど脱感作されていないことは注目に値するものであろう。この点に関して、長田は<sup>42)</sup> <sup>43)</sup> PPD-S その他 OT よりの各種画分によって結核動物の脱感作を行なったところ、皮内反応の推移は各抗原によって明らかに異なる成績を示したと報じている。長田はこの相違は脱感作抗原としての OT と PPD-S に質的な差があるためであろうとし、その後再検討を行っているが<sup>38)</sup>、その原因をはっきりさせることが出来なかった。我々の場合は長田の場合とは使用した動物および感作方法が異なるが、我々もまた長田と同様、PPD-S, OT あるいは菌体蛋白画分に脱感作抗原として質的な差があることを認めざるを得ない結果に到達した。

一般に結核蛋白は菌体蛋白であれツベルクリン蛋白であれ血清学的には抗原性の異ったいろいろな蛋白部分の集合物であることは、結核蛋白のゾーンエレクトロフォーシス、寒天内沈降反応による先人の研究結果から容易に想像し得るところである<sup>44)</sup>。従っていわゆる「結核感作状態」は1つの純粋な状態ではなく、いろいろな感作状態の綜合されたものと考えられる。このように考えると、長田の成績も我々の成績も一応理解されるわけであるが、この点に関する詳細な研究は将来の問題である。

## 結 論

結核死菌感作ウサギを OT, PPD-S, 菌体蛋白画分あるいは死菌を以て脱感作を試み次の結果を得た。

- 1) 各脱感作処置によって血中抗体では、蛋白抗体のみ抗体価の上昇を示した。
- 2) OT に対して脱感作された動物はなお、PPD-S, 菌体蛋白画分に対しては依然として皮内反応陽性を呈した。
- 4) 脾細胞の各種抗原に対する感受性は、それらの抗原による脱感作処置によって感弱した。
- 4) 血中抗体と細胞融解現象と皮膚のツ型反応の3者間に一定の関連性が認められなかった。

本論文の要旨は昭和36年4月第36回日本結核学会総会で発表した。

## 文 献

- 1) Hamburger, F : *Med. Klin.* 30, 353, 1934.
- 2) Krause, A. K. : *Am. Rev. Tbc.*, 18, 208, 1928.
- 3) Willis, H. S. & Woodruff, C.E. : *Am. J. Path.*, 14, 337, 1938.
- 4) Rich, A. R. : *The pathogenesis of tuberculosis*  
Charles C. Thomas (1951)
- 5) Rothschild, H. et al. : *Bull. Johns Hopkins*, 54, 232, 1934.
- 6) Pagel, W. : *J. Path. Bact.*, 44, 643, 1937.
- 7) Fourestier, M et Balancque-Belair, A. : *Presse Medicale.*, 60, 669, 1952.
- 8) Paretzky : *Am. Rev. Tbc.*, 7, 353, 1917.
- 9) 戸田忠雄 : *実地医家と臨牀*, 14, 1157, 昭16.
- 10) 渡会 浩 : *日新医学*, 28, 1307, 昭14.
- 11) Willis, H. S. et al. : *Am. Rev. Tbc.*, 38, 10, 1938.
- 12) Duprez, C. : *C. R. Soc. Biol.*, 117, 834, 1934.
- 13) 安在貞吉 : *札幌医学雑誌*, 3, 41, 昭27.
- 14) 大原 達 : *アレルギー*, 4, 1, 昭29.
- 15) 林 久子 : *結核*, 31, 477, 昭31.
- 16) 金井興美他 : *日本細菌学雑誌*, 10, 839, 851, 昭30
- 17) Takahashi, Y. et al : *C. R. Soc. Biol.*, 154, 2163, 1960.
- 18) Takahashi, Y. et al : *J. Exp. Med.*, 113, 1141, 1961.
- 19) 高橋義夫 : *日本細菌学雑誌*, 15, 935, 昭35.
- 20) Rich, A. R. & Lewis, M. R. : *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 50, 115, 1932.
- 21) Favour, C. B. : *Advances in Tuberculosis Research*, 4, 219, 1951.
- 22) 山本健一他 : *結核の研究*, 17・18集, 1, 昭37.
- 23) 藤田誠一 : *結核の研究*, 13集, 13, 昭33.
- 24) Clawson, B. J & Baker, A. B. : *J. Infect. Dis.*, 56, 297, 1935.
- 25) Higginbotham, M. W. : *Am. J. Hyg.*, 26, 197, 1937.
- 26) Baker, A. B. : *Am. Rev. Tbc.*, 31, 54, 1935.
- 27) 磯俊六 : *東京医学会雑誌*, 55.10, 昭16.
- 28) 森川和雄 : *札幌医科大学紀要*, 2, 227, 昭27.
- 29) 大原達他 : *アレルギー*, 1, 29, 昭26.
- 30) Middlebrook, G & Dubos, R. J. : *J. Exp. Med.*, 88, 521, 1948.
- 31) Boyden, S. : *J. Exp. Med.*, 93, 107, 1951
- 32) Menyell, G. G. : *J. Path. Bact.*, 67, 137, 1954.
- 33) Stacy, M. & Sokin, E. : *Experimental Tuberculosis*  
(A Ciba Foundat. Symp.), 144, 1955.
- 34) 進藤宙二 : *日本細菌学雑誌*, 13, 560, 昭33.
- 35) 吉田清一 : *結核*, 31, 563, 昭30.
- 36) 川上保雄他 : *アレルギー*, 4, 31, 昭29.
- 37) 八木静馬 : *金沢大学結研年報*, 14, 31, 昭30.
- 38) 長田進他 : *最新医学*, 15, 2175, 昭35.
- 39) 会田謙吉 : *新潟医学会誌*, 73, 1257, 昭34.
- 40) 土屋院司 : *東京女子医大誌*, 30, 1223, 昭35.
- 41) Seibert, F. B & Gleen, J. T. : *Am. Rev. Tbc.*, 44, 9, 1941.
- 42) 長田 進 : *日本細菌学雑誌*, 14, 829, 昭34.
- 43) 長田 進 : *日本細菌学雑誌*, 15, 16, 昭35.
- 44) 米田正彦 : *結核*, 38, 287, 昭38.